

PUB-NO: W0000174371A1

DOCUMENT-IDENTIFIER: WO 174371 A1

TITLE: FENUGREEK MUCILAGES AND GALACTOMANNANS AND USES THEREOF

PUBN-DATE: October 11, 2001

INVENTOR-INFORMATION:

NAME	COUNTRY
BOURRET, EVELYNE	FR

ASSIGNEE-INFORMATION:

NAME	COUNTRY
CENTRE NAT RECH SCIENT	FR
BOURRET EVELYNE	FR

APPL-NO: FR00101040

APPL-DATE: April 5, 2001

PRIORITY-DATA: FR00004350A (April 5, 2000)

INT-CL (IPC): A61K 35/78; A61K 7/48; C08B 37/00; A23L 1/0526

EUR-CL (EPC): A21D002/18 ; A23C009/137 , A23D009/007 , A23K001/16 , A23L001/0526 , A23L001/24 , A23L001/308 , A23L001/39 , A61K008/64 , A61K008/97 , A61K035/78 , A61Q019/00 , C08B037/00 , C08L099/00

ABSTRACT:

CHG DATE=20031112 STATUS=0>The invention concerns fenugreek mucilages in the form of flour with grain size distribution less than 100 μm , consisting of 60 wt.% of oses, relative to the composition total weight, namely mannose, galactose, glucose, arabinose, xylose, rhamnose, D-galacturonic acid, 50-55 wt.% of oses consisting of galactomannans, and 5 wt.% of proteins. The invention also concerns galactomannans consisting exclusively as oses, of mannose and galactose, with a mannose/galactose ratio of 1, 1.2, and intrinsic viscosity higher than 10 dl.g^{-1} , in particular 10 to 12 dl.g^{-1} , the degree of polymerisation ranging between 4900 and 6500 and the average molecular mass M_v between $1.4 \cdot 10^6$ and $2 \cdot 10^6$ daltons. The invention is applicable to food, cosmetic and pharmaceutical industry.

**(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)**

**(19) Organisation Mondiale de la Propriété
Intellectuelle**
Bureau international



(43) Date de la publication internationale
11 octobre 2001 (11.10.2001)

PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 01/74371 A1

(51) Classification internationale des brevets⁷ :
A61K 35/78, 7/48, C08B 37/00, A23L 1/0526

(81) États désignés (national) : AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GI, GM, IIR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(21) Numéro de la demande internationale :
PCT/FR01/01040

(84) États désignés (régional) : brevet ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), brevet eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(22) Date de dépôt international : 5 avril 2001 (05.04.2001)

Publiée :

- *avec rapport de recherche internationale*
- *avant l'expiration du délai prévu pour la modification des revendications, sera republiée si des modifications sont reçues*

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :
00/04350 5 avril 2000 (05.04.2000) FR

(71) Déposant (pour tous les États désignés sauf US) :
CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE (CNRS) [FR/FR]; 3, rue Michel Ange, F-75794 Paris (FR).

(72) Inventeur; et

(75) Inventeur/Déposant (pour US seulement) : **BOURRET, Evelyne** [FR/FR]; 7, lotissement le Versailles, Chemin de Versailles, F-34980 Montferrier sur Lez (FR).

(74) Mandataires : **PEAUCELLE, Chantal** etc.; Cabinet Armentaud Ainé, 3, avenue Bugeaud, F-75116 Paris (FR).

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abréviations, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de la Gazette du PCT.

(54) Title: FENUGREEK MUCILAGES AND GALACTOMANNANS AND USES THEREOF

(54) Titre : MUCILAGES ET GALACTOMANNANES DE FENUGREC ET LEURS APPLICATIONS

(57) Abstract: The invention concerns fenugreek mucilages in the form of flour with grain size distribution less than 100 µm, consisting of 60 wt.% of oses, relative to the composition total weight, namely mannose, galactose, glucose, arabinose, xylose, rhamnose, D-galacturonic acid, 50-55 wt.% of oses consisting of galactomannans, and 5 wt.% of proteins. The invention also concerns galactomannans consisting exclusively as oses, of mannose and galactose, with a mannose/galactose ratio of 1, 1.2, and intrinsic viscosity higher than 10 dl.g⁻¹, in particular 10 to 12 dl.g⁻¹, the degree of polymerisation ranging between 4900 and 6500 and the average molecular mass M_v between 1.4.10⁶ and 2.10⁶ daltons. The invention is applicable to food, cosmetic and pharmaceutical industry.

(57) Abrégé : L'invention concerne des mucilages de fénugrec se présentant sous forme de farine de granulométrie inférieure à 100 µm, composée à raison de 60 % en poids d'oses, par rapport au poids total de la composition, à savoir de mannose, galactose, glucose, arabinose, xylose, rhamnose, acide D-galacturique, 50-55 % en poids des oses étant formés de galactomannanes et, à raison de 5 % en poids, de protéines. L'invention concerne également des galactomannanes exclusivement constitués en tant qu'oses, par du mannose et du galactose, par un rapport mannose/galactose de 1 à 1,2, et une viscosité intrinsèque supérieure à 10 dl.g⁻¹, notamment de 10 à 12 dl.g⁻¹, le degré de polymérisation variant alors de 4900 à 6500 unités et la masse moléculaire moyenne M_v de 1,4.10⁶ à 2.10⁶ daltons. Application dans les domaines alimentaire, cosmétique ou pharmaceutique.

A1

WO 01/74371

A1

WO 01/74371

A1

Mucilages et galactomannanes de fénugrec et
leurs applications

L'invention a pour objet des mucilages et des galactomannanes de fénugrec. Elle vise également leur obtention et leurs applications en tant qu'agents épaississants et stabilisants, et comme fibres solubles, en particulier dans 5 des produits à haute valeur ajoutée.

Les fibres alimentaires font traditionnellement partie intégrante du régime alimentaire des pays occidentaux, mais leur importance relative est variable. Si la ration en fibres 10 a nettement diminué depuis le 19ième siècle, on note aujourd'hui un intérêt pour les fibres alimentaires pourvues d'effets particuliers.

Les fibres solubles, de nature polysaccharidique, dont les 15 gommes et les mucilages, sont ainsi largement utilisées pour leurs effets physiologiques et métaboliques sur la fonction gastrique, l'intestin grêle, le colon et en thérapeutiques gastro-entérologique et métabolique. Elles présentent également un grand intérêt dans l'industrie alimentaire en 20 tant qu'agents épaississants et texturants.

Les mucilages sont des polyosides hétérogènes, polymères 25 d'oses et d'acides uroniques contenus dans l'albumen de diverses graines. Ils présentent un fort pouvoir de rétention d'eau, ils sont peu dégradés par le colon, et sont fermentescibles. Le guar, la caroube, l'ispaghul sont des mucilages. Si le mucilage de caroube est essentiellement

employé en tant qu'agent de texture dans l'industrie alimentaire, le guar, chef de file de ce groupe, (improprement dénommé gomme guar), est largement utilisé en thérapeutique dans certaines pathologies digestives et 5 métaboliques comme adjuvant dans les traitements du diabète non-insulino-dépendant, de l'hypercholestérolémie, des hyperlipémies et de l'obésité.

Les mécanismes de l'action physiologique des fibres solubles 10 sont liés à leur pouvoir de rétention d'eau et à leurs propriétés épaississantes qui provoquent un ralentissement de la vidange gastrique, une augmentation du bol alimentaire et une diminution de l'absorption intestinale du glucose. Cet effet fibre est attribué à la présence dans le mucilage d'une 15 grande quantité de galactomannanes. Ces galactomannanes sont également utilisés en tant que tels dans les diverses applications évoquées ci-dessus.

Les galactomannanes ont la structure d'une chaîne 20 polysaccharidique neutre, constituée d'un squelette linéaire composé d'unités (1→4)- β -D-mannopyranosyl et de branchements latéraux très courts formés d'unités D-galactopyranose reliées en (16) à la chaîne principale de mannoses. Chaque galactomannane est caractérisé par le rapport taux de 25 mannoses / taux de galactoses (M/G). Ce rapport qui détermine le degré de substitution de la chaîne polysaccharidique est en fait une moyenne, la périodicité de la répartition des galactoses le long de la chaîne de mannoses étant irrégulière.

La solubilité des galactomannanes est liée à la présence de résidus -D-galactopyranosyl sur le squelette linéaire de mannoses. Elle est inversement proportionnelle au rapport M/G. Les rapports M/G du galactomannane des différentes 5 légumineuses varie de 1 pour le trèfle à 4 pour la caroube. En moyenne, la valeur obtenue pour le galactomannane de guar se situe à 1,68.

Afin de disposer de substituts des fibres rappelées ci-dessus, les inventeurs ont étudié les produits pouvant être obtenus à partir d'une légumineuse, à savoir le fénugrec, dont les activités thérapeutiques hypcholestérolémiantes et hypoglycémiantes ont été rapportées par ailleurs.

Une coupe transversale de la graine de fénugrec montre que la fraction mucilagineuse est située entre le tégument et les cotylédons et se trouve en contact avec la couche d'aleurone constituée de cellules protéiques. La graine entière de fénugrec comprend 45 à 60 % de glucides, dont 18 % de mucilage, 30 % de protéines et 6 à 10 % de lipides.

Plusieurs méthodes d'obtention du mucilage et du galactomannane à partir de graines de fénugrec ont déjà été proposées.

Ainsi, Reid et Meier (1) solubilisent directement les graines entières de fénugrec dans de l'eau chaude. Désagrégées par les ultrasons, les graines sont centrifugées. Le surnageant est ensuite additionné d'acide acétique et le galactomannane 30 est précipité par l'éthanol.

Ribes et al (2, 3) rapportent une méthode d'obtention d'une fraction délipidée, à partir de graines broyées de fénugrec, cette fraction étant séparée par solvants en gradients de densité.

5

A partir de cette fraction délipidée, les auteurs séparent une sous-fraction constituée des cotylédons et de l'embryon, à partir de laquelle ils isolent la 4-hydroxyisoleucine dont ils ont mis en évidence les propriétés thérapeutiques (2).

10 Une autre sous-fraction est constituée par le testa et l'endosperme. Il s'agit d'une sous-fraction mucilagineuse.

Garti et al (4) et (5) décrivent une méthode d'obtention du galactomannane purifié dans laquelle les graines entières 15 broyées sont délipidées par l'hexane, le résidu solide est ensuite additionné d'éthanol puis de méthanol pour éliminer les saponines, puis solubilisé à l'eau. La solution est purifiée par deux centrifugations successives, à 5000 g puis à 100000 g, pour éliminer les protéines et les fibres 20 insolubles (cellulose, hémicellulose, lignine), cette opération étant répétée 4 fois. Les fractions solubilisées dans l'eau sont précipitées par l'éthanol dans les surnageants réunis ; l'hydrocolloïde est recueilli par lyophilisation. Ce lyophilisat est dénommé par les auteurs 25 fraction bi-purifiée. Cette fraction peut encore être purifiée pour donner une fraction dite tri-purifiée.

Seul ce dernier article aborde les propriétés physico-chimiques du fénugrec. Les auteurs rapportent des propriétés 30 émulsionnantes et donnent une courbe de viscosité. Les

propriétés émulsionnantes sont déterminées avec le N-tétradécane en présence de galactomannane bi- et tri-purifié à la concentration de 1 à 9 g/kg.

5 L'étude rhéologique montre que la viscosité de solutions de la fraction bi-purifiée de fénugrec est inférieure à celle obtenue avec une gomme guar (dont la nature n'est pas précisée). La viscosité apparente (lue par interpolation graphique) est de 200 mPa.s à une vitesse de cisaillement de 10 rpm pour une solution contenant 7 g/kg de fraction bi-purifiée. Les auteurs concluent également que le fénugrec n'est pas un agent gélifiant et qu'il ne présente aucune synergie avec les Kappa carraghénanes.

15 Une «Étude rhéologique sur le fénugrec» a fait l'objet d'un mémoire de DEA (Hernandez Aguirre, (6)). Le travail donne les viscosités apparentes des solutions contenant 0,5 % de mucilage extrait selon les 2 méthodes qui sont décrites : préparation par solubilisation à l'eau chaude ou 20 précipitation et bain sulfurique puis séparation manuelle du mucilage. Ces solutions donnent respectivement, au gradient de cisaillement de $9,33 \text{ s}^{-1}$, 81 mPa.s et 42 mPa.s.

25 Le rapport M/G varie selon les auteurs de 1 à 1,40 ce qui est prédictif d'une bonne hydrosolubilité (1), (5) et (7).

Les inventeurs ont alors développé un protocole pour obtenir des mucilages et des galactomannanes de grande pureté, à partir de la sous-fraction mucilagineuse, constituée du testa 30 et de l'endosperme, séparée lors de l'extraction de la 4-

hydroxy-isoleucine dans la technique de Ribes et al (2,3).

La caractérisation des mucilages séparés et des galactomannanes extraits a permis de mettre en évidence que, 5 de manière inattendue, ces produits présentaient un pouvoir épaississant en solution aqueuse supérieur à celui généralement observés avec les mucilages et galactomannanes du commerce et ceux décrits dans la littérature et donc utilisables comme substituts de ces produits.

10

L'invention a donc pour but de fournir, en tant que nouveaux produits, de nouveaux mucilages et de nouveaux galactomannanes à partir du fénugrec.

15

Elle vise également un procédé d'obtention de ces produits.

L'invention vise en outre les applications de ces mucilages et de ces galactomannanes, notamment, dans le domaine alimentaire, en thérapeutique, en pharmacotechnie ou encore 20 en cosmétique, en mettant à profit leur pouvoir épaississant élevé qui permet de les utiliser à plus faible concentration que les mucilages ou galactomannanes de l'art antérieur.

25

Les mucilages de fénugrec de l'invention sont caractérisés en ce qu'ils se présentent sous forme de farine de granulanométrie inférieure à 100 µm, composée à raison de 60% environ en poids d'oses, (valeur moyenne) par rapport au poids total de la composition, à savoir de mannose, galactose, glucose, arabinose, xylose, rhamnose, acide 30 galacturonique, environ 50-55% en poids des oses étant formés

de galactomannanes et, à raison de 5% en poids, de protéines.

D'une manière avantageuse, les mucilages de l'invention sont pratiquement totalement dépourvus de composants indésirables, 5 comme les saponines et les lipides, éliminés par gradients de densité et centrifugation.

Avantageusement, les mucilages de l'invention se présentent sous forme de poudre de granulométrie homogène, qui peut être 10 inférieure à 50 μm , voire à 30 μm , ce qui facilite la solubilisation des oses à propriétés épaississantes qu'ils renferment.

Ces mucilages sont encore caractérisés en ce que leurs 15 solutions dans l'eau à 0,5% (p/v) possèdent des viscosités η , de l'ordre de 50 mPa.s, au gradient de cisaillement de 50 s^{-1} , à 80 mPa.s à 10 s^{-1} , à 25°C, comme illustré dans les exemples. Ces viscosités n'évoluent pratiquement pas avec le temps lorsque la solubilisation est effectuée à 85°C, alors 20 que les préparations de guar peuvent perdre leur pouvoir épaississant à température élevée (voir notamment la figure 4 et la référence (7)).

Selon un autre aspect, ces mucilages sont tels qu'obtenus par 25 broyage à partir d'une sous-fraction mucilagineuse contenant l'endosperme de graines de fénugrec. Cette sous-fraction est elle-même obtenue par broyage des graines, tamisage, séparation par solvants en gradients de densité, pour isoler une fraction non lipidique, séparée également par solvants en 30 gradients de densité en 2 sous-fractions, l'une contenant les

cotylédons et l'embryon de la graine, l'autre correspondant à ladite sous-fraction mucilagineuse contenant le testa, la couche d'aleurone et l'albumen, et plus spécialement les cellules à mucilage.

5

Conformément à l'invention, les mucilages sont tels qu'obtenus par rigidification des particules constituantes, par exemple par broyage de ladite sous-fraction mucilagineuse à basse température, à savoir inférieure à au moins -20°C environ, et de préférence de l'ordre de la température de l'azote liquide, de -195°C, de manière à obtenir une farine dont la granulométrie permet une solubilisation satisfaisante dans l'eau et la libération des galactomannanes qu'elle renferme facilitant ainsi l'expression du pouvoir viscosifiant, cette étape de rigidification étant suivie, si on le souhaite, d'une purification de la farine obtenue.

L'invention vise également, en tant que nouveaux produits, des galactomannanes du fénugrec. Ces galactomannanes sont caractérisés en ce qu'ils sont exclusivement constitués en tant qu'oses, par du mannose et du galactose, par un rapport mannose/galactose de 1 à 1,2 et une viscosité intrinsèque supérieure à 10 dl.g⁻¹, notamment de 10 à 12 dl.g⁻¹. Le degré de polymérisation varie ainsi de 4900 à 6500 et la masse moléculaire moyenne M_v de 1,4.10⁶ à 2.10⁶ daltons. La pureté de ces galactomannanes est remarquablement élevée. Ils sont en effet pratiquement totalement dépourvus de lipides, saponines, fibres insolubles et protéines, l'azote provenant de substances azotées autres que les protéines. Cette pureté élevée avec absence de protéines les distingue des

galactomannanes de l'art antérieur. En effet, les fractions bi-purifiée et tri-purifiée, décrites par Garti et al sur lesquelles ont été effectuées les mesures de viscosité (exemple 1 de (5)) comprennent respectivement 2% et 0,85% de 5 protéines.

On remarquera avec intérêt que les galactomannanes de l'invention présentent une viscosité intrinsèque de 10% environ plus élevée que celle de galactomannanes de guar 10 préparés dans des conditions identiques comme rapporté dans les exemples.

Il en est de même de leur degré de polymérisation. Avec une valeur d'au moins $1,4 \cdot 10^6$ daltons, leur masse moléculaire est 15 proportionnellement beaucoup plus élevée (30%) que celle du guar. Ces résultats sont la conséquence directe de la dépendance entre viscosité intrinsèque et longueur du squelette de mannoses ainsi que du degré de substitution élevé du fénugrec.

20 Avec un rapport M/G voisin de 1, la chaîne du galactomannane de fénugrec est plus rigide que celle du guar. La valeur de viscosité intrinsèque plus élevée pour le fénugrec refléterait alors cette rigidité qui donne un volume 25 hydrodynamique proportionnellement plus élevé ayant pour conséquence les propriétés épaississantes observées.

30 De manière inattendue, et selon un aspect de grand intérêt, la viscosité des solutions des galactomannanes de l'invention, à même gradient de cisaillement, est plus élevée

que celle de solutions de galactomannanes de l'art antérieur. De plus, l'étude du comportement rhéologique des solutions de sous-fractions mucilagineuses de fénugrec a permis de mettre en évidence une grande stabilité à température élevée de 5 l'ordre de 85°C, ce qui présente un intérêt pour bon nombre d'applications comportant une étape de chauffage.

10 Selon un autre aspect, les galactomannanes de fénugrec de l'invention sont caractérisés en ce qu'ils sont obtenus à partir des mucilages définis ci-dessus selon un procédé d'extraction comprenant la solubilisation des mucilages à chaud ou à froid en milieu aqueux ou à froid en milieu acide, la précipitation à l'alcool, et la récupération du précipité, soumis le cas échéant à un traitement de purification.

15 L'invention vise également un procédé d'obtention de mucilages de fénugrec à propriétés épaississantes tels que définis ci-dessus.

20 Ce procédé est caractérisé en ce qu'il comprend le broyage, à une température inférieure à -20°C, d'une fraction non lipidique de graines de fénugrec, se présentant sous forme de poudre contenant les cellules à mucilage des graines et si on le souhaite la purification de la poudre obtenue.

25 De manière avantageuse, l'utilisation de la fraction mucilagineuse composée du testa et de l'endosperme permet de disposer d'un matériau de départ renfermant la totalité des fibres solubles, dont le galactomannane, ainsi que des fibres 30 insolubles et dont la teneur en protéines est faible, ne

dépassant pas 5%. On notera avec intérêt que l'élimination, dans le matériau de départ des composés indésirables, par gradient de densité et centrifugation à 25000 g, comme décrit dans (2) et (3), correspond avantageusement à une technique 5 aisée à mettre en oeuvre.

Comme indiqué plus haut, le broyage de la fraction mucilagineuse est avantageusement réalisé à une température qui permet la rigidification des éléments divisés de la 10 fraction, et notamment à la température de l'azote liquide, de -195°C. Cette technique permet de rigidifier les particules et de les rendre ainsi plus aptes à l'attaque mécanique.

15 L'invention vise également un procédé d'obtention de galactomannanes de fénugrec.

Ce procédé est caractérisé par l'extraction des fractions solubles à partir des mucilages définis ci-dessus à l'aide 20 d'un agent de précipitation. La solubilisation des fractions solubles est effectuée dans une solution aqueuse acidulée. On a recours, par exemple, à une solution d'acide acétique à 5%. Les fractions insolubles restantes sont éliminées. Cette élimination est effectuée par exemple par centrifugation. En 25 opérant à 25000 g, on obtient la séparation recherchée de ces fractions insolubles qu'on souhaite éliminer. Le traitement peut-être renouvelé si on le souhaite.

Les fractions solubles sont précipitées par exemple avec de 30 l'éthanol, notamment à 50%. Après élimination du solvant, les

farines obtenues sont séchées et, si on le souhaite, soumises à au moins une étape de purification.

5 Ces procédés conduisent à des mucilages et des galactomannanes de grande pureté, dépourvus des impuretés ou composants habituellement présents dans les produits antérieurs. Tout effet indésirable est ainsi éliminé et les propriétés épaississantes recherchées ne se trouvent pas perturbées.

10

L'invention fournit des produits qui donnent des solutions de viscosité supérieure à celle des solutions de guar et de fénugrec décrites jusqu'ici, de grande stabilité à la température.

15

Les propriétés épaississantes des mucilages et galactomannanes de l'invention leur confèrent un intérêt dans des secteurs variés.

20

On citera tout particulièrement le secteur alimentaire où leurs propriétés résultant de la longueur de leur chaîne et de leur viscosité sont mises à profit dans des applications comme agents épaississants et stabilisants, et permettent de développer des textures innovantes.

25

A ce titre, ils pourront être réalisés comme additifs alimentaires, auxiliaires technologiques et fibres solubles.

30

Des exemples d'applications comprennent l'élaboration de sauces, préparations instantanées, alimentation infantile,

glace, fourrage de biscuits. D'autres applications sont données à titre indicatif dans les exemples. Leur hydrosolubilité et leur stabilité à température élevée (supérieure à 50°C) constituent à cet égard des avantages 5 d'intérêt.

Les mucilages et les galactomannanes constituent des produits à haute valeur ajoutée également dans les secteurs pharmaceutique et cosmétique comme auxiliaires technologiques 10 par leur effet épaississant, leur action stabilisatrice de suspensions et d'émulsions, leur pouvoir émulsionnant et leur pouvoir de rétention d'eau (propriétés hydrophiles).

Les mucilages et galactomannanes de l'invention entrent ainsi 15 avantageusement dans la composition de préparations destinées à l'alimentation particulière des surcharges pondérales et de leurs conséquences métaboliques, à l'alimentation des diabétiques, des obèses, et comme adjuvants des régimes restrictifs, comme modérateurs de l'appétit, et/ou comme 20 régulateurs du transit intestinal, et dans les préparations protectrices des muqueuses stomachale et intestinale.

Ils sont également utilisables dans la formulation de préparations pharmaceutiques destinées à la libération 25 contrôlée de molécules actives, en tant qu'adjuvants, agents désintégrants et comme matrices hydrophiles.

L'invention vise donc l'application des mucilages et des galactomannanes définis ci-dessus dans les domaines 30 alimentaire ou encore pharmaceutique et cosmétique.

Dans ces différentes applications d'une manière générale, les mucilages et les galactomannanes de l'invention peuvent-être utilisés seuls ou en mélange avec des oligomères et/ou des 5 polymères, notamment des polysaccharides gélifiants ou non gélifiants ou des protéines.

D'autres caractéristiques et avantages de l'invention apparaîtront dans la suite de la description et en se 10 référant aux figures 1 à 7 qui représentent, respectivement

- la figure 1, un schéma du protocole de fractionnement de graines de fénugrec selon l'invention,
- les figures 2 à 7, les courbes des mesures de la viscosité 15 en régime permanent et cisaillement simple de mucilages de fénugrec selon l'invention, de mucilages de guar préparés selon le procédé de l'invention, de farines commerciales de guar, et de galactomannanes extraits de ces préparations, après 1h de solubilisation à 25°C (fig.2) ; à 85°C (fig.3) ; 20 des farines de fénugrec et de guar à 85°C après 1 h, 2 h et 3 h de solubilisation (fig.4) ; de galactomannanes et de mucilages de fénugrec après 1 h de solubilisation à 25°C et 85°C (fig.5) ; de galactomannanes de fénugrec et de préparations de guar après 1 h de solubilisation à 25°C 25 (fig.6), et de galactomannanes de fénugrec après 1 h de solubilisation à 25°C et à 85°C, et de galactomannanes de guar après 1 h de solubilisation à 25°C (fig.7).

1 - Obtention et contrôle de la fraction mucilagineuse

. Séparation du mucilage

Les poudres utilisées (poudre de fénugrec et poudre de guar)
5 sont obtenues à partir de graines entières selon la technique illustrée dans la figure (1), qui comporte les opérations suivantes :

- broyage, et séparation par solvants en gradient de densité

10 Les graines entières sèches sont broyées dans un broyeur à percussion muni de billes d'acier. La poudre grossière obtenue est tamisée. Le tamisat obtenu subit l'action d'un mélange de trifluorotrichloroéthane et d'hexane (77:23 V/V) permettant ainsi l'obtention de deux fractions. Par 15 différence de densité, on obtient un extrait lipidique et une fraction non lipidique.

- séparation de la fraction délipidée en 2 sous-fractions

La fraction non lipidique est séparée en 2 sous-fractions par 20 la même technique que celle décrite ci-dessus, l'une contenant, le tégument, la couche d'aleurone et l'albumen, l'autre l'embryon et les cotylédons.

La sous-fraction contenant l'albumen renferme le mucilage qui 25 est l'élément majeur responsable des propriétés épaississantes de la poudre. Elle sera dénommée sous-fraction mucilagineuse délipidée. Elle se présente sous la forme d'une poudre grossière contenant des fragments de forme irrégulière de diamètre variable (de 1 à 2 mm) qu'on pulvérise afin de 30 diminuer les pertes et faciliter la solubilisation du

mucilage en améliorant la granulométrie.

. Pulvérisation du mucilage

En raison de la solubilité insuffisante de la fraction 5 contenant le mucilage, il est nécessaire de réduire les dimensions des particules par une opération de broyage. Celle-ci permet d'augmenter la surface spécifique et d'améliorer la solubilisation des fractions épaississantes contenues dans cette fraction. Les dimensions 10 granulométriques moyennes prises comme références sont celles des poudres commerciales de guar. Plusieurs techniques de broyage ont été utilisées : broyeurs classiques à couteaux et à billes d'acier, microniseur Jett-mill à jet d'air comprimé très puissant au sein d'une enceinte close, un microniseur 15 FOD. La réussite de la pulvérisation peut dépendre de la résistance des particules, mais aussi de leur déformabilité. La solubilisation est liée à la granulométrie des particules qui varie fortement en fonction des techniques de broyage utilisées comme le montre les résultats donnés dans le 20 tableau 1.

Tableau 1

**Granulométrie de la poudre de la fraction mucilagineuse
broyée par différentes techniques**

	Voie sèche à 2 bars		Voie liquide éthanol	
	d(v, 0, 5)	d(4, 3)	d(v, 0, 5)	d(4, 3)
Moulin à café	314	370	ND	ND
Microniseur Jett-mill (a)	331	386	ND	ND
Microniseur FOD (a)	325	379	ND	ND
Caroube commercial	52	56	46	52
GUAR commercial (1)	116 122	118 129	122	126
GUAR commercial (2)	50 52	53 56	48 47	51
GUAR (d)	70 (c)	91 (c)	34 (b) 46 (c) 41 (c)	38 (b) 61 (c) 53 (c)
FENUGREC	28 (c) 38 (c)	31 (c) 44 (c)	29 (b) 27 (b) 32 (c)	38 (b) 37 (b) 40 (c)

Diamètres exprimés en microns : d(v, 0, 5) : diamètre médian et

5 d(4, 3) : diamètre moyen en volume

(a) fraction mucilagineuse de fénugrec

(b) et (c) deux échantillons de fractions mucilagineuses

(d) poudre préparée selon le protocole appliqué au fénugrec

10 ND non déterminé

(1) et (2) : deux fournisseurs différents.

Un broyeur à percussion refroidi par de l'azote liquide a été utilisé. On introduit 500 mg de poudre grossière dans l'enceinte close. La poudre subit pendant 5 minutes une agitation constante. Elle se pulvérise sous l'action d'une seule bille d'acier. Ce type de broyeur présente l'avantage de rigidifier les particules à la température de -195°C les rendant ainsi plus aptes à l'attaque mécanique. Cette technique a permis d'obtenir une granulométrie au moins comparable à celle des poudres commerciales et même inférieure (tableau 1, guar (d) et fénugrec).

La poudre obtenue présente les caractères organoleptiques d'une farine blanc crème légèrement odorante.

Un examen microscopique permet d'observer l'homogénéité des poudres et d'évaluer approximativement la taille et la forme des particules.

20 . Analyse granulométrique

La granulométrie des poudres est réalisée sur un granulomètre Laser Mastersizer Malvern en voie sèche et en voie liquide. Comme milieu liquide, on choisit l'éthanol, qui ne provoque pas le gonflement ou la solubilisation des polysaccharides étudiés. Les mesures granulométriques sont réalisées en voie sèche à deux pressions différentes, 2 et 3 bars, afin d'examiner l'éventualité d'une déformabilité ou d'une agglomération des particules.

30 Les deux méthodes en voie sèche et voie liquide donnent des

résultats équivalents sur des billes de latex étalon utilisées comme produit modèle.

5 Les résultats (tableau 1) montrent qu'il n'existe pas de différence significative entre la voie sèche et la voie liquide et qu'il n'y a aucune influence de la pression en voie sèche.

10 Les farines obtenues possèdent une granulométrie voisine et même inférieure aux poudres commerciales de guar ou de caroube (30 μm pour le fénugrec et 40 μm pour le guar).

. Composition

15 La composition en oses et la teneur en protéines ont été examinées.

La composition en oses est analysée par chromatographie en phase gazeuse selon la méthode de Blakeney et al (7) :

20 Une hydrolyse en milieu sulfurique (H_2SO_4 3N) est effectuée en présence d'un étalon interne l'inositol, sur une prise d'essai, exactement pesée, de 15 à 20 mg. Les oses simples libérés sont réduits en alditol par action du borohydrure de sodium (NaBH_4) dans du DMSO, puis acétylés par l'anhydride acétique en présence de méthylimidazole. L'extraction des acétates d'alditols est effectuée ensuite en phase aqueuse par le chloroforme. L'extrait est injecté (2 μl) dans un chromatographe Varian 3300 (colonne DB 225 à 205°C, injecteur à 220°C, détecteur à 260°C, gaz vecteur hydrogène).

La séparation des oses simples est visualisée sur un chromatogramme. On peut alors déterminer la nature des oses et calculer leur teneur par rapport à l'inositol. La composition de cette fraction mucilagineuse délipidée, est 5 indiquée dans le tableau 2 ci-dessous.

Tableau 2 :
Contrôle des farines

FARINES	Granulométrie Laser en voie liquide d(v, 0,5) en μm	Pertes : % de fractions non dissoutes (moyennes)	Composition en oses des farines
commerciales de guar	(1) 122 μm (2) 48 μm	30%	Mannose, galactose, glucose, arabinose
Fraction mucilagineuse de Guar	40 μm		Mannose, galactose, glucose, arabinose, xylose
Fraction mucilagineuse de Fénugrec	30 μm	40%	Mannose, galactose, glucose, arabinose, xylose, rhamnose, ac D galacturonique

10 Les farines préparées selon le protocole qui a été indiqué renferment, outre les oses habituels trouvés dans les farines commerciales de guar (mannose, galactose, glucose, arabinose), du xylose. La fraction mucilagineuse pulvérisée de fénugrec renferme, en moyenne, 59% de sucres totaux, dont 15 51% de galactomannanes représentés par les proportions de mannose et de galactose réunies. Sa composition, avec la

présence de rhamnose et d'acide galacturonique, est différente de la composition des fractions mucilagineuses de guar.

5 La teneur en protéines de la fraction mucilagineuse, évaluée à partir de l'azote total dosé par la méthode de Kjeldhal et en utilisant un coefficient de conversion de 6,25, est estimée à 5,3% (0.85% d'azote).

10 . **Fractions soluble et insoluble**

La phase de mise en solution est très importante pour libérer le pouvoir épaississant des polysaccharides. Les pertes par fractions non dissoutes ont été déterminées sur les solutions de farines après solubilisation, pendant 1h à 25°C suivi de 15 1h à 85°C. Dans ces conditions, les fractions solubles à chaud, si elles existent, sont solubilisées. Les solutions sont filtrées sur pores (10 à 16 µm), évaporées à 40°C et les résidus pesés. Les pertes sur la fraction mucilagineuse pulvérisée sont en moyenne de 40% alors que, pour les farines 20 commerciales, les pertes sont voisines de 30% (tableau 2).

2 - Extraction et caractérisation du galactomannane

. **Extraction**

25 On opère comme décrit par Ribes et al. (2,3). Le protocole d'extraction est le suivant :

Un gramme de farine est mis en solution dans 100 ml d'acide acétique à 5% et maintenu sous agitation pendant 20 minutes, 30 à température ambiante, sous pression atmosphérique. La

solution obtenue est ensuite centrifugée à 25 000g pendant 20 minutes et le culot est rejeté. Le surnageant recueilli après chaque centrifugation est repris par une solution d'acide acétique à 5%, cette opération étant effectuée à 2 ou 3 5 reprises. Le culot est inexistant après la 3ème centrifugation. L'addition d'éthanol absolu (50:50 en titre final) dans le surnageant précipite le galactomannane sous forme d'un chevelu blanc caractéristique. Celui-ci est filtré et lavé par un mélange éthanol-acétone, puis par l'acétone 10 seule. Le galactomannane obtenu est alors séché en étuve à 40°C pendant 12 heures, puis pulvérisé au mortier (rendement 12 à 15% par rapport à la graine entière).

. Composition

15 La poudre obtenue est blanc pur et inodore; ses caractères organoleptiques dépendent de la pulvérisation au mortier. Cette poudre se dissout totalement en milieu aqueux. A l'analyse chromatographique des oses, seuls sont identifiés du mannose et du galactose .

20 Le taux d'azote de cet extrait a été évalué par la méthode de Kjeldhal avant et après élimination des protéines par l'acide trichloracétique. Par différence entre les deux méthodes, on évalue l'azote provenant des protéines dont on estime la 25 teneur équivalente en prenant le coefficient multiplicateur de 6,25. Avec une différence qui donne un équivalent en protéines de 0,15%, on peut conclure que l'azote contenu dans cet extrait provient de substances azotées diverses et que les protéines sont absentes ou à l'état de traces. Ce 30 résultat est confirmé par le dosage des protéines par la

méthode à l'acide cinchoninique qui donne une teneur de 0,01% de protéines. Ce dosage est effectué sur les galactomannanes selon la méthode donnée sous le paragraphe 2) extraction, ci-dessus.

5

. Détermination du rapport taux de mannoses/taux de galactoses.

Deux méthodes sont appliquées : la méthode chromatographique (dosage GLC) de Blakeneay et al (8) et la méthode analytique (dosage volumétrique) de Fernandes (9). La méthode GLC permet par le chromatogramme, d'identifier et de quantifier simultanément les oses présents, puis d'examiner le taux de polysaccharides totaux. L'analyse ne révèle que du mannose et du galactose. Le rapport M/G est égal à 1,07 par la méthode chromatographique, et 1,13 par la méthode volumétrique. Ces résultats confirment les travaux antérieurs.

. Degré de polymérisation et masse moléculaire viscosimétrique moyenne

La viscosité intrinsèque de solutions aqueuses diluées de galactomannane est évaluée par les méthodes de Huggins et de Kraemer (10) (voir également l'ouvrage de Quivoron (11)). L'influence d'ions compensateurs (NaCl à 0,1M) a également été étudiée. Ces mesures sont réalisées à l'aide d'un viscosimètre capillaire Fica, de type Ubbelhode, de diamètre 0,58 mm à la température de 25°C.

Les polymères sont préparés par dispersion progressive du galactomannane dans de l'eau distillée. La solubilisation du polymère se fait pendant une heure à 25°C, suivie d'une heure

à 85 °C. Les solutions obtenues sont alors filtrées sur un filtre dont les pores ont un diamètre moyen variant de 10 à 16 µm. La concentration des solutions mères est égale à 0,05% (p/v). Les concentrations finales des solutions de galactomannanes sont corrigées des pertes.

Le degré de polymérisation a été calculé à partir de l'équation de Fernandes (12), et de l'équation de Mark-Houwink correspondante, en fonction du rapport M/G évalué par GLC.

L'équation de Fernandes s'écrit : $[\eta] = 2,14 \cdot 10^{-2} \text{ DP } 0,273$.

L'équation de Mark-Houwink établie par Robinson (13) s'écrit : $[\eta] = K M_v 0,273$, où la constante K tient compte du degré de polymérisation DP ; M_v est la masse moléculaire moyenne viscosimétrique.

Les résultats moyens trouvés pour le galactomannane de fénugrec sont les suivants :

- Viscosité intrinsèque: 10,41 dl.g-1
- Degré de polymérisation: 5200 unités
- Masse moléculaire: $1,63 \cdot 10^6$ daltons

Les essais effectués en milieu NaCl montrent qu'il n'y a pas d'influence des ions compensateurs sur le comportement du polymère en solution.

On notera que les résultats trouvés pour un galactomannane de guar préparé de façon identique à partir de la graine entière, sont :

- Viscosité intrinsèque: 9,45 dl.g-1
- Degré de polymérisation: 4500 unités
- Masse moléculaire: $1,18 \cdot 10^6$ daltons

5 Les résultats obtenus sur des galactomannanes extraits de farines commerciales de guar sont similaires.

Ainsi, la viscosité intrinsèque du fénugrec est de 10% plus élevée que celle du guar. Il en est de même de son degré de polymérisation. Avec une valeur à $1,6 \cdot 10^6$ daltons, sa masse moléculaire est proportionnellement beaucoup plus élevée (30%) que celle du guar.

3. Etude des propriétés épaisissantes

15

. Méthodes

On rapporte les résultats de la mesure de la viscosité en régime permanent et cisaillement simple avec examen du comportement rhéologique. Le comportement non newtonien de type rhéofluidifiant des solutions est vérifié par ajustement à la loi puissance d'Ostwald : $\tau = K [\gamma]^n$ où n représente l'indice d'écoulement. Le comportement rhéofluidifiant se caractérise par un indice d'écoulement inférieur à 1 et le comportement newtonien, par un indice égal à 1.

25

Ces mesures sont effectuées sur des solutions aqueuses semi-diluées des sous-fractions mucilagineuses pulvérisées de fénugrec et de guar, sur des farines commerciales de guar et sur les galactomannanes extraits de ces préparations. Les 30 courbes de viscosité apparente sont effectuées, à la

température contrôlée de 25°C, à l'aide d'un rhéomètre à régime permanent (RS 100 HAAKE) muni d'un mobile plan-cône C60/1° (mobile de 60 mm de diamètre et formant un angle de 1 degré par rapport au plan).

5

Les solutions étudiées sont préparées par dispersion progressive des poudres sous agitation modérée permanente à une concentration de 0,5% (p/v). La solubilisation est effectuée à deux températures distinctes : 25°C et 85°C. Les 10 viscosités sont évaluées après 1 heure, 2 h et 3 heures de solubilisation.

Les résultats obtenus sont donnés sur les figures 2 à 7. Les préparations selon l'invention sont notées du nom de l'espèce 15 suivie d'un astérisque : fénugrec*. Le terme de poudre, trouvé sur les schémas, correspond à la fraction mucilagineuse délipidée, pulvérisée à -195°C et aux préparations commerciales. Les tableaux donnent l'indice d'écoulement et la viscosité apparente à 10 s⁻¹.

20

. Farines à 25°C

Les solutions présentent toutes un comportement rhéofluidifiant (figure 2). En effet, les courbes d'écoulement, modélisées par la loi puissance d'Ostwald, 25 donnent des indices d'écoulement inférieurs à l'unité quelle que soit l'origine de la farine. Ce comportement est invariable en fonction du temps de solubilisation. Les viscosités présentent assez peu de différences entre les différents produits apportant la preuve que la fraction 30 mucilagineuse de fénugrec présente un pouvoir viscosifiant au

moins aussi élevé que celle de guar. Les farines commerciales de guar ont une viscosité variable en fonction du fournisseur.

5 L'évolution des viscosités apparentes au cours du temps de solubilisation n'est pas significative comme le montrent les résultats donnés dans le tableau 3.

TABLEAU 3

Farines	Temps de solubilisation	Indice d'écoulement Ostwald n	25°C η en mPa.s à 10 s ⁻¹
GUAR commercial (1)	1h	0,62	214
	2h	0,55	230
	3h	0,54	227
GUAR commercial (2)	1h	0,64	71
	2h	0,62	82
	3h	0,59	121
GUAR*	1h	0,65	67
	2h	0,73	58
	3h	0,77	58
FENUGREC*	1h	0,67	70
	2h	0,64	67
	3h	ND	ND

10 * poudres préparées selon l'invention

(1) et (2) = 2 fournisseurs différents

. Farines à 85°C

Le comportement rhéologique des solutions de farines est rhéofluidifiant pour toutes les farines à la première heure de solubilisation. La figure 3 montre une augmentation de la 5 viscosité d'une préparation commerciale. Ceci correspond aux fractions solubles à chaud (HWS). On constate également que la viscosité de la fraction mucilagineuse délipidée de fénugrec est supérieure à 85 °C à celle du guar préparé dans les mêmes conditions.

10

Le maintien de la température à 85 °C au-delà de 1 heure (solubilisation prolongée pendant 2 ou 3 heures) entraîne l'apparition, dès la 2ème heure, d'un comportement newtonien caractérisé par un indice d'écoulement égal ou proche de 1, 15 de la préparation de fraction mucilagineuse de guar. Ce comportement traduit une perte totale du pouvoir viscosifiant (figure 4 et tableau 4 ci-dessous); les préparations commerciales de guar ont un comportement variable : l'une est stable, l'autre se comporte comme la préparation de guar 20 obtenue selon les caractéristiques de l'invention. Dans les mêmes conditions, la préparation mucilagineuse délipidée de fénugrec ne varie que très faiblement. Cette stabilité peut revêtir un intérêt important pour les produits manufacturés qui nécessitent une préparation à chaud.

TABLEAU 4

Farines	Temps de solubilisation	Indice d'écoulement Ostwald n	85°C η en mPa.s à 10 s ⁻¹
GUAR commercial (1)	1h	0,70	102
	2h	0,83	30
	3h	1,00	18
GUAR commercial (2)	1h	0,60	108
	2h	0,60	103
	3h	0,60	120
GUAR*	1h	0,84	28
	2h	0,97	9
	3h	0,97	6
FENUGREC*	1h	0,72	66
	2h	0,70	59
	3h	0,70	49

. Galactomannanes à 25°C et 85°C

5 Les essais qui suivent portent sur l'étude de l'intérêt en terme de gain de viscosité de l'extraction du galactomannane.

La figure 5 montre pour le galactomannane de fénugrec une viscosité 2 à 3 fois plus grande que celle de la fraction mucilagineuse pulvérisée (poudre*) et ceci quelle que soit la température de solubilisation.

A 25 °C (figure 6 et tableau 5) le galactomannane de fénugrec a une viscosité 2 à 3 fois plus grande, au gradient de

vitesse de cisaillement 10 s^{-1} , que le galactomannane des différentes préparations de guar qui ont, toutes, une viscosité inférieure.

TABLEAU 5

5

Galactomannanes à 25°C	Temps de solubilisation	η en mPa.s à 10 s^{-1} Solubilisation à 25°C
GUAR commercial (1)	1h	79
	2h	77
	3h	88
GUAR commercial (2)	1h	100
	2h	89
	3h	92
GUAR*	1h	126
	2h	120
	3h	124
FENUGREC*	1h	200
	2h	175
	3h	226

A 85°C (figures 7), le pouvoir viscosifiant du galactomannane de fénugrec diminue d'environ 25% mais reste nettement supérieur à celui des préparations de guar. Les résultats 10 obtenus sont donnés dans le tableau 6.

TABLEAU 6

Galactomannanes à 85°C	Temps de solubilisation	η en mPa.s à 10 s ⁻¹
GUAR commercial (1)	1h	79
	2h	72
	3h	67
GUAR commercial (2)	1h	94
	2h	12
	3h	5
GUAR*	1h	120
	2h	91
	3h	44
FENUGREC*	1h	160
	2h	135
	3h	110

Cette étude rhéologique montre que:

- 5 • Les préparations de fénugrec sont solubles à 25°C ; leur viscosité n'évolue pas avec le temps lorsque la solubilisation est effectuée à 85°C, alors que les préparations de guar perdent rapidement leur pouvoir viscosifiant à cette même température.
- 10 • La fraction mucilagineuse délipidée et pulvérisée de fénugrec a une viscosité au moins aussi élevée que celles des poudres de guar préparées de façon identique ou trouvées dans le commerce; à 85°C, la viscosité est plus élevée pour le fénugrec.
- 15 • Le galactomannane de fénugrec présente une viscosité 2 à 3 fois supérieure à celle de la fraction dont il est

extrait et 2 à 3 fois supérieure à 25°C à celle des galactomannanes de guar (à 85°C, ces derniers perdent, dans la majorité des cas, tout pouvoir viscosifiant).

5 4. Applications industrielles des mucilages et des galactomannanes de l'invention

Les propriétés des produits de fénugrec de l'invention : hydrosolubilité, stabilité à la température, pouvoir viscosifiant élevé, polysaccharide non chargé, présentent une 10 grande importance pour les produits alimentaires manufacturés à solubilisation instantanée ou qui demandent une préparation à une température élevée. Des exemples d'utilisations alimentaires sont donnés ci-après.

15 Produits laitiers

Lait écrémé, milk shake (0,05 à 3%), Yaourts et Yaourts allégés (1 à 3%), Produits laitiers acide, Mousses (2 à 5%), Mousses au chocolat (0,09%), Desserts lactés, Crèmes fouettées (8 à 14%), Crèmes pâtissières pasteurisées, Desserts en poudre, Bavarois, Substituts de matières grasses, Matières grasses allégées, Pâtes à tartiner allégées en MG (1 à 25%), Glaces, Sorbets et Crèmes glacées (0,05 à 0,25%), Fromages maigres (2 à 9%), Fromages (0,2 à 1%), Agar + pectines dans les yaourts à 0%, Substituts de la caséine, Substituts de 20 caséine dans les fromages, Crèmes ou Crèmes légères sous pression (1%), Laits cacaotés ou chocolatés (2%), laits gélifiés (0,5 à 20%) le cas échéant aromatisés, Flans nappés, Desserts neutres aérés (mousses, liégeois, toppings), Gels à 25 structure légère.

Produits allégés

Substituts des lipides, Produits hypocaloriques, Pâtes à tartiner, Produits allégés ultra-frais (yaourts, fromages blanc, pâtes fraîches, desserts glacés allégés), Produits 5 allégés en sucre et en matières grasses.

Charcuterie

Charcuteries, Salaisons, Saucisses de Francfort (3 à 6%), Saucisses (0,5%), Pâtés de foie (3 à 6%), Galantines, Foies 10 gras, Pains de viande (3 à 6%), Gélifiants, Gelées de couverture des produits à bases de viandes, Gelées salées, Gels à base de viande, Gelées d'enrobage, Oeufs en gelées, Surfactants, Émulsifiants, Steaks hachés, Conserves, Viandes et poissons, Liants des viandes cuites, Fabrication des 15 bardes alimentaires.

Boissons

Boissons instantanées (2 à 3%) Jus de fruits (2%), Émulsifiants, Stabilisants de boissons alcoolisées aux 20 extraits végétaux, Stabilisants d'émulsions à boire (50%), Brasserie, Boissons en poudre, Précipitation des coagulats en brasserie (2 à 5g/hl), Boissons gélifiées, Snacks apéritifs, Boissons citronnées, Boissons non alcoolisées.

25 Boulangerie, Biscuiterie, Confiserie, Épicerie

Cakes (3 à 7%), Biscuits (4 à 7%), Crackers (3%), Pains (2 à 3%), Céréales (4 à 15%), Remplacement de la farine de blé à la concentration de 10%, Antirassissant pains, Cakes, Biscuits, Boulangerie max. 0,80% ou 1%, Tartes (1 à 2%), 30 Glaçage 0,3%, Pâtes à beignets, Préparations en poudres pour

desserts (4g/l de produit reconstitué), Confiseries, Gomme à mâcher, Confitures, Crèmes de fourrage, Préparations de fruits sur sucre, Chocolat, Pâtes à tartiner au chocolat (5 à 30%), Fourrages (10 à 25%), Fourrages de produits de 5 biscuiterie et pâtisserie, Nappages, Enrobages (5g/kg), Contrôle de la cristallisation du sucre meringue, Glaçage (12,4%), Caramels, Nougats, Agents d'encapsulation dans les confitures et compotes.

10 Sauces

Vinaigrettes (3 à 6%), Mayonnaises allégées 1,55%, Gelées d'enrobage, Gels de couverture, Sauces salades 0,25% jusqu'à 8g/kg, Stabilisants des vinaigrettes, Bouillons et potages (10%), Potages en poudre, Sauces béchamel, Sauces 15 réfrigérées, Fonds de sauce.

Plats cuisinés

Viandes en gelée, Hamburgers, Plats cuisinés, Gelées d'enrobage, Gels de couverture, Fourrages pour olives 20 (anchois, poivron), Conserves de viandes, Crèmes mousseline instantanées, Repas prêts à consommer, Surgelés, Produits congelés.

Pharmacie

25 Comprimés (5 à 50%), Dragées, Ovules, Suppositoires, Stabilisants des lotions, crèmes et émulsions, Épaississants des dentifrices, Adhésifs dentaires, Coupe-faims, Laxatifs, Agents de charge, Stabilisants d'agents de contraste, Agents 30 désintégrants et auxiliaires technologiques dans les comprimés, Traitement des ulcères gastriques, Capsules

molles, dures, Microencapsulation, Adhésifs biologique, Vecteurs de médicaments, Produits radiologiques.

Cosmétologie, Parfumerie

5 Dentifrices, Crèmes et Crèmes de protection, Laits, Masques de beauté, Lotions, Shampooings.

Autres

10 Boues de forrage, Explosifs, Produits pour animaux domestiques, Stabilisants de ces produits, Gels désodorisants d'atmosphère, Encapsulation d'arômes, agents de fixation, Stabilisants des matières colorantes dans les boissons fermentées à base de fruits, Peintures, Pesticides (0,2 à 0,8%), Papeteries, Collage des vins, Émulsions 15 photographique, Imprimerie, Enrobage des frites, Produits de nettoyage, Agriculture.

Exemple 1

Une spécialité laitière présentant la composition pondérale suivante établie pour 100 g de préparation :

20 . protéines de lait : 6 g
. crème de lait : 10 g
. fraction mucilagineuse de fénugrec : 1 g
. ferments lactiques, eau
. lait écrémé q.s.p. : 100 g

25 La fraction mucilagineuse de fénugrec est dissoute dans quelques millilitres d'eau, puis additionnée sous agitation au lait écrémé avec les protéines de lait et la crème de lait. Après ajout des ferments lactiques et homogénéisation, la préparation est portée à 32° C et maintenue à cette température pendant 3 heures. On

effectue alors un brassage jusqu'à obtention d'une crème lisse qui est conservée à 4° C.

Exemple 2

5 Une sauce vinaigrette aromatisée aux herbes présentant une composition centésimale suivante :

- . huile végétale : 25%
- . vinaigre de vin : 7%
- . fines herbes : 2,5%
- 10 . amidon modifié de maïs : 2%
- . fraction mucilagineuse de fénugrec : 0,5%
- . assaisonnement (sel, poivre)
- . eau q.s.p. : 100%

15 Le procédé de fabrication consiste à :

- solubiliser à chaud l'amidon modifié de maïs dans une partie d'eau : préparation A ;
- solubiliser la fraction mucilagineuse de fénugrec dans une autre 20 partie d'eau : préparation B ;
- émulsionner l'huile et la partie restante d'eau contenant le vinaigre de vin : préparation C ;
- mélanger sous agitation la préparation A refroidie et la préparation B puis la préparation C en émulsionnant l'ensemble ;
- 25 - additionner les ingrédients d'assaisonnement (sel, poivre, fines herbes) et homogénéiser.

Exemple 3

Une sauce vinaigrette aromatisée au roquefort présentant une 30 composition centésimale suivante :

- . huile végétale : 25%
- . vinaigre de vin : 5%

- . moutarde : 1,5%
- . roquefort : 3 %
- . fraction mucilagineuse de fénugrec : 0,4%
- . assaisonnement (sel, poivre)

5 . eau q.s.p. : 100%

Le procédé de fabrication consiste à :

- solubiliser la fraction mucilagineuse de fénugrec dans une partie d'eau : préparation A ;
- 10 - travailler le roquefort, la moutarde et le vinaigre de vin : préparation B ;
- émulsionner l'huile végétale dans la partie restante d'eau : préparation C ;
- mélanger et homogénéiser sous agitation dans l'ordre la préparation B, la préparation C puis la préparation A ;
- 15 - additionner sous agitation les ingrédients d'assaisonnement (sel, poivre) et homogénéiser.

Exemple 4

20 Une sauce aromatisée pour accompagner les viandes, crudités, légumes, salades selon la composition :

- . huile végétale : 15%
- . purée de tomate : 20%
- 25 . vinaigre de vin : 1%
- . oignons : 0,5%
- . xanthane : 0,3%
- . fraction mucilagineuse de fénugrec : 0,5%
- . assaisonnement (sel, poivre)
- 30 . aromates : 0,2%
- . eau q.s.p. : 100 g

La préparation suit les étapes suivantes :

- Dissoudre séparément dans une partie d'eau le xanthane à chaud et la fraction mucilagineuse de fénugrec : préparations A et B.
- 5 - Mélanger la purée de tomates, le vinaigre de vin, l'oignon, les aromates et l'assaisonnement : préparation C.
- Emulsionner l'huile végétale dans la partie restante d'eau : préparation D.
- Mélanger sous agitation les préparations dans l'ordre C, D, puis
- 10 A et B.

Exemple 5

Un complément alimentaire riche en fibres diminuant la sensation de faim, adjuvant des régimes restrictifs dans le traitement des

15 surcharges pondérales et de leurs conséquences métaboliques :

- . extrait purifié d'Amorphophallus rivieri : 20 g
- . galactomannane de fénugrec : 20 g
- . xylitol : 6 g
- 20 . arôme fraise
- . lactose q.s.p. : 100 g

La préparation consiste à mélanger de façon homogène toutes les poudres et à répartir ce mélange en sachet de 5 g.

25

Exemple 6

Un complément alimentaire comme régulateur du transit intestinal, modérateur de l'appétit, traitement des surcharges pondérales selon la composition :

30

- . extrait de fénugrec : 45 g
- . pectines de pomme : 35 g
- . aspartam : 6 g

- . arôme vanille
- . lactose q.s.p. : 100 G

La préparation consiste à mélanger ces poudres et à les répartir
5 en sachet de 5 g.

Exemple 7

Une préparation présentée sous une forme destinée à
l'administration transdermique de nicotine dans le traitement
10 substitutif à la consommation de tabac :

- . nicotine (sulfate) : 30 mg
- . carraghénate de potassium : 10 mg
- . galactomannane de fénugrec : 8 mg
- 15 . eau q.s.p. une dose : 1000 mg

La préparation consiste à partager l'eau en 3 parts.

- Dans une part, dissoudre à chaud le carraghénate de potassium :
20 préparation A.
- Dans une 2ème partie, dissoudre sous agitation le galactomannane de fénugrec : préparation B.
- Dans la 3ème partie, dissoudre la nicotine.
- Mélanger les 3 préparations A, B et C puis laisser reposer 24
25 heures pour la formation du gel. Chaque dose est conditionnée sous emballage hermétique.

Exemple 8

Une formulation de comprimés destinés à la libération contrôlée
30 dont la composition est la suivante :

- formulation 1 pour masse unitaire de 640 mg :
. galactomannane de fénugrec : 32 mg

- . théophylline : 130 mg
- . talc : 12,8 mg
- . stéarate de magnésium : 6,4 mg
- . lactose q.s.p. : 640 mg

5

- formulation 2 pour masse unitaire de 400 mg :

- . galactomannane de fenugrec : 16 mg
- . theophylline : 300 mg
- . talc : 8 mg

10 . stéarate de magnésium : 4 mg

. lactose : 72 mg

Après mélange et tamisage des poudres, la préparation des comprimés est effectuée par une granulation par voie humide.

15

Exemple 9 :

Une gelée ayant des propriétés laxatives présentée en sachets doses de 15 g et dont la composition est :

20 . Paraffine liquide : 5 g

. Galactomannane de fénugrec : 0,15 g

. Glycérol : 5 g

. Arôme : framboise

. Eau qsp : 15 g

25

La préparation consiste à solubiliser le galactomannane dans l'eau, additionner sous agitation le glycérol à cette solution, puis l'arôme framboise: préparation A. La paraffine est émulsionnée avec la préparation A.

Exemple 10 :

Une suspension aqueuse buvable d'antibiotique dont la composition par millilitres est la suivante :

5 . Amoxicilline : 100mg
 . Galactomannane de fénugrec : 10 mg
 . Aspartam : 60 mg
 . Arôme fraise

10 La préparation consiste à :
 - solubiliser le galactomannane de fénugrec dans l'eau ;
 - dissoudre l'arôme et l'aspartam dans cette solution : préparation A ;
 - mettre en suspension en homogénéisant l'amoxicilline dans
15 la préparation A.

L'invention fournit donc des moyens de valorisation de la partie de la graine de fénugrec testa+endosperme, jusqu'alors rejetée après l'extraction de la 4-hydroxy isoleucine, en
20 fournissant des mucilages et des galactomannanes à propriétés viscosifiantes élevées permettant de les utiliser à plus faible concentration que les produits actuellement commercialisés et donc de diminuer les problèmes de fermentescibilité observés avec ces produits.

Références bibliographiques

- 1 - Reid J.S. et Meier H. (1970). Formation of reserve galactomannan in the seeds of *Trigonella foenum-graecum*. *Phytochemistry*, 9, 513-520.
- 2 - Ribes G., Sauvaire Y., Da Costa C., Baccou J.C. et 5 Loubatière-Mariani M.M. (1986). Antidiabetic effects of subfractions from fenugreek seeds in diabetic dogs. *Proceedings of the society for experimental biology and medecine*, 182, 159-166.
- 3 - Ribes G., Da Costa C., Loubatières-Mariani M.M., Sauvaire 10 T. et Baccou J.C. (1987). Hypocholesteroleamic and hypotriglyceridaemic effects of subfractions from fenugreek seeds in alloxan diabetic dogs. *Phytotherapy research*, 1, 1, 38-43.
- 4 - Garti N., Madar Z., Aserin A. et Sternheim B. (1997). 15 Fenugreek galactomannans as food emulsifiers. *Food Science and Technology*, 30, 305-311.
- 5 - Garti N., Aserin A., Madar Z., Sternheim B., 1998. Galactomannan products and compositions containing the same. WO 95/211999
- 6 - Hernandez Aguirre J.G. (1981). Etude rhéologique sur le 20 Fénugrec. DEA de chimie organique fondamentale et appliquée AIX MARSEILLE.
- 7 - Bradley T. D., Ball A., Harding S. E. et Mitchell J. R., 1989. Thermal degradation of Guar Gum. *Carbohydrate Polymers*, 10, 205-214.
- 8 - Blakeney A.B., Harris P.J., Henry R.J. et Stone B.A.

(1983). A simple and rapid preparation of alditol acetates for monosaccharides analysis. Carbohydrate research, 113, 291-299.

9 - Fernandes P.B. (1994). Determination of the physical functionality of galactomannans in kappa-carrageenan/galactomannan mixed systems by periodate oxidation. Food Chemistry, 49, 367-371.

10 - Morris E. R., Cutler A. N., Ross-Murphy S. B., Rees D. A., 1991. Concentration and shear rate dependence of viscosity in random coil polysaccharide solutions, 1, 5-21.

11 - Quivoron C. (1972). Viscosité des solutions macromoléculaires diluées, in Chimie Macromoléculaire, Hermann Paris 1972, tome II, Chap. IV, 211-259.

12 - Fernandes P.B., Gonçalves M.P. and Doublier J.L. (1991). A rheological Characterization of Kappa - Carrageenan/Galactomannan Mixed Gels : A Comparison of Locust Bean Gum Samples, 16, 253-274

13 - Robinson G., Ross-Murphy S.B. et Morris E.R. (1982). Viscosity-molecular weight relationship, intrinsic chain flexibility, and dynamic solution properties of guar galactomannan. Carbohydrate research, 107, 17-32.

REVENDEICATIONS

- 1) Mucilages de fénugrec, caractérisés en ce qu'ils se présentent sous forme de farine de granulométrie inférieure à 100 μm , composée à raison de 60% environ en poids d'oses, par rapport au poids total de la composition, à savoir de mannose, galactose, glucose, arabinose, xylose, rhamnose, acide D-galacturonique, environ 50-55% en poids des oses étant formés de galactomannanes et, à raison de 5% en poids, de protéines.
- 10 2) Mucilages selon la revendication 1, caractérisés en ce qu'ils se présentent sous forme de farine de granulométrie inférieure à 50 μm .
- 15 3) Mucilages selon la revendication 2, caractérisés en ce qu'ils se présentent sous forme de farine de granulométrie inférieure 30 μm .
- 20 4) Mucilages selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisés par une viscosité η , pour des solutions à 0,5% (p/v) supérieures à 40 mPa.s au gradient de cisaillement de 50 s^{-1} , à 70 mPa.s à 10 s^{-1} , à 25°C, ces valeurs restant pratiquement stables à 85°C.
- 25 5) Mucilages selon l'une quelconque des revendications de 1 à 4, caractérisés en ce qu'ils sont tels qu'obtenus à partir d'une sous-fraction mucilagineuse contenant les cellules à mucilage de graines de fénugrec, par rigidification des particules constituantes, par exemple par broyage de ladite

sous-fraction mucilagineuse à basse température, inférieure à au moins -20°C, et de préférence à la température de l'azote liquide, de -195°C, et si on le souhaite, purification de la farine obtenue.

5

6) Galactomannanes de fénugrec, caractérisés en ce qu'ils sont exclusivement constitués en tant qu'oses, par du mannose et du galactose, par un rapport mannose/galactose de 1 à 1,2, et une viscosité intrinsèque supérieure à 10 dl.g⁻¹, notamment de 10 à 12 dl.g⁻¹, le degré de polymérisation variant alors de 4900 à 6500 unités et la masse moléculaire moyenne M_v de 1,4.10⁶ à 2.10⁶ daltons.

15 7) Galactomannanes selon la revendication 6, caractérisés en ce qu'ils sont pratiquement totalement dépourvus de lipides, saponines, fibres insolubles et protéines, l'azote provenant de substances azotées autres que les protéines.

20 8) Galactomannanes selon la revendication 6 ou 7, caractérisés en ce qu'ils sont obtenus à partir des mucilages selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, selon un procédé d'extraction comprenant la solubilisation des mucilages à chaud ou à froid en milieu aqueux ou à froid en milieu acide, la précipitation à l'alcool, et la récupération 25 du précipité, soumis le cas échéant à un traitement de purification.

30 9) Procédé d'obtention de mucilages de fénugrec, caractérisé en ce qu'il comprend le broyage, à une température inférieure à -20°C, d'une fraction non lipidique, de graines fénugrec,

se présentant sous forme de poudre contenant les cellules à mucilage des graines et, si on le souhaite, la purification de la poudre obtenue.

5 10) Procédé selon la revendication 9, caractérisé en ce que le broyage de la fraction mucilagineuse est réalisé à une température qui permet la rigidification des éléments divisés de la fraction, et notamment à la température de l'azote liquide, de -195°C.

10

11) Procédé d'obtention de galactomannanes de fénugrec, caractérisé par l'extraction à partir des fractions solubles des mucilages selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, à l'aide d'un agent de précipitation tel que l'éthanol.

15

12) Procédé selon la revendication 11, caractérisé en ce que la solubilisation des fractions solubles est effectuée dans une solution aqueuse acidulée.

20

13) Procédé selon l'une quelconque des revendications 11 ou 12, caractérisé en ce que les fractions sont récupérées après séparation des fractions insolubles par centrifugation.

25

14) Application des mucilages et galactomannanes selon l'une quelconque des revendications 1 à 8, comme agents épaississants et stabilisants, dans le domaine alimentaire.

15) Application selon la revendication 14, comme additifs alimentaires, auxiliaires technologiques et fibres solubles.

30

16) Application des mucilages et galactomannanes selon l'une quelconque des revendications 1 à 8, comme agents épaississants et stabilisants, et comme fibres solubles dans les domaines cosmétique ou pharmaceutique.

figure 1

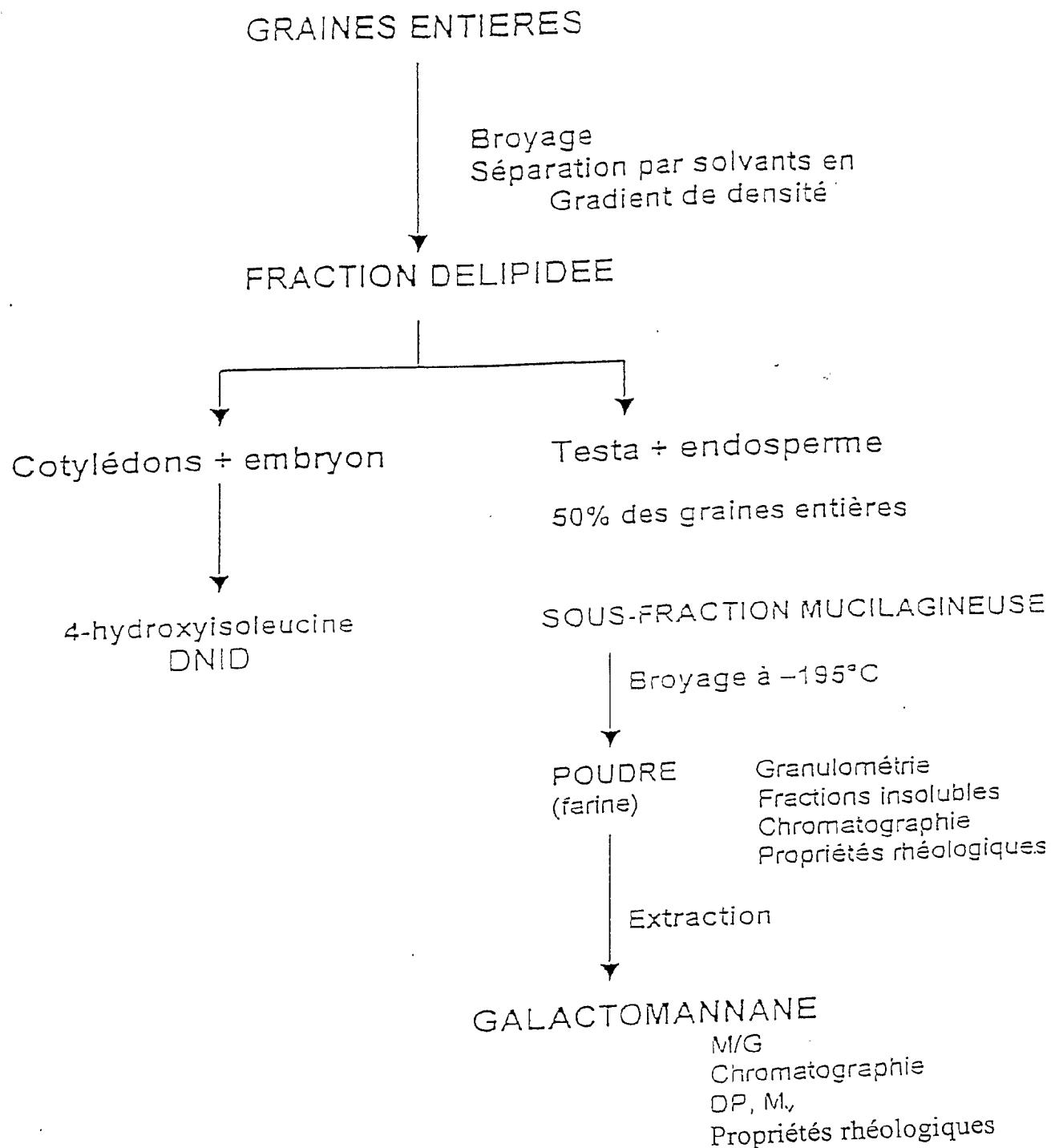


figure 2: Poudres, solubilisation 1 h à 25°C

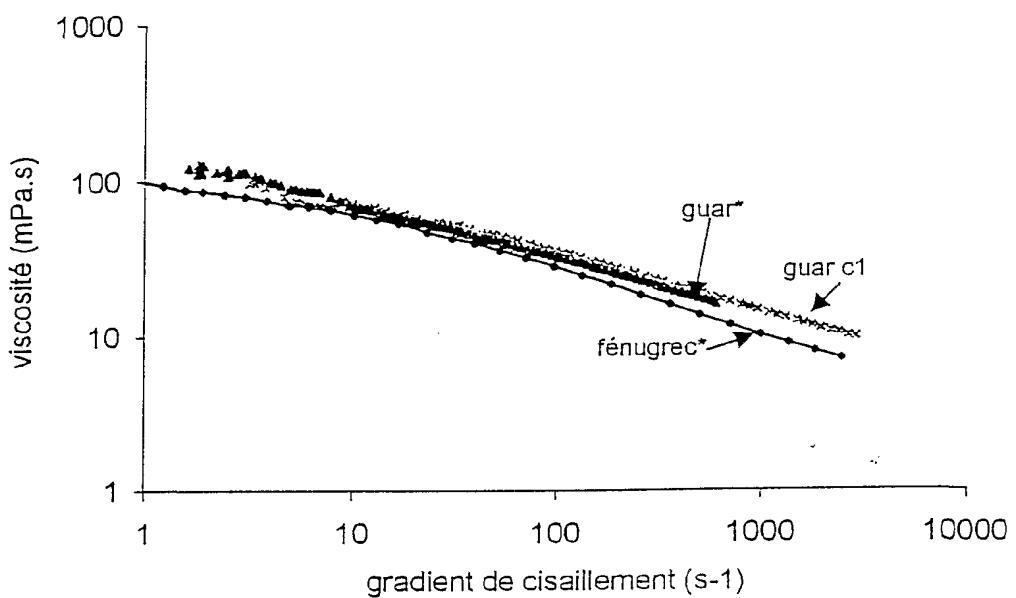


figure 3: Poudres, solubilisation 1 h à 85°C

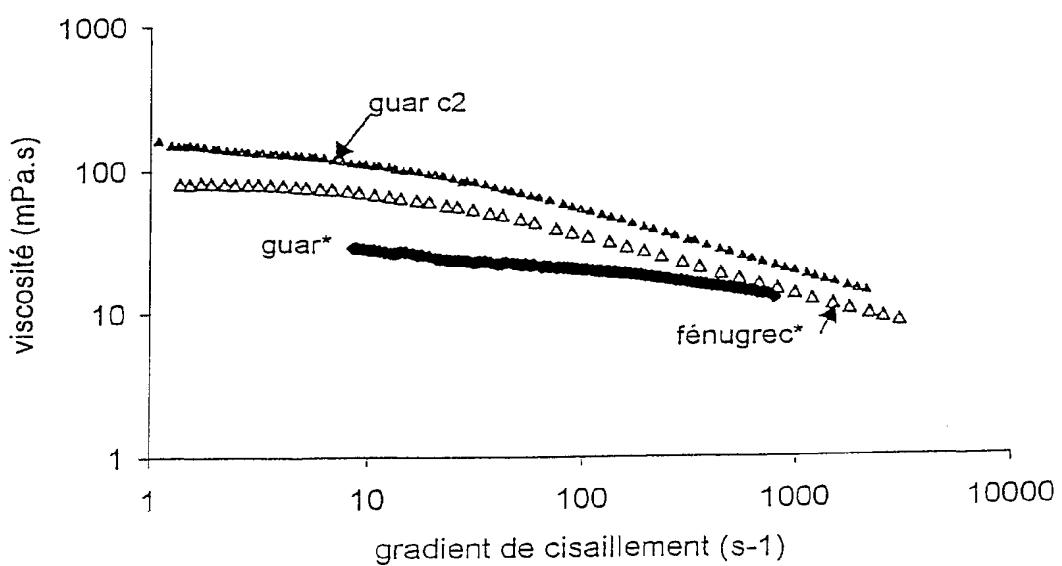


figure 4: Poudres, solubilisation 1 et 2 h à 85°C

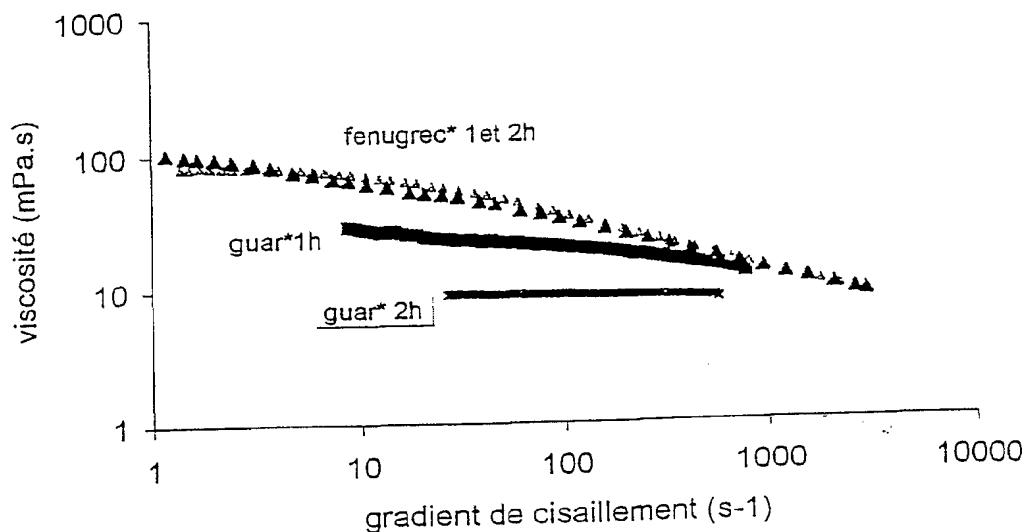


figure 5: Galactomannane et poudre de Fénugrec,
solubilisation 1h à 25 et 85°C

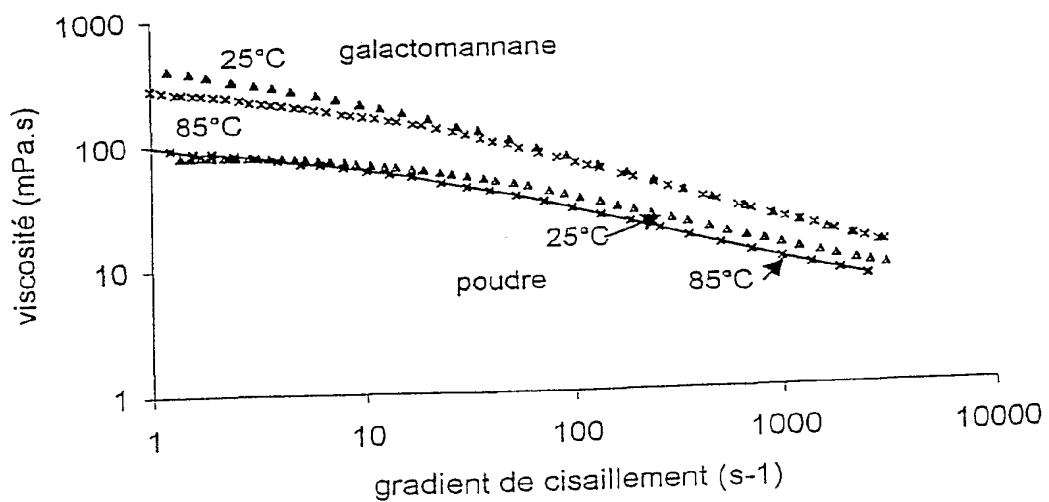


figure 6: Galactomannanes, solubilisation 1h à 25°C

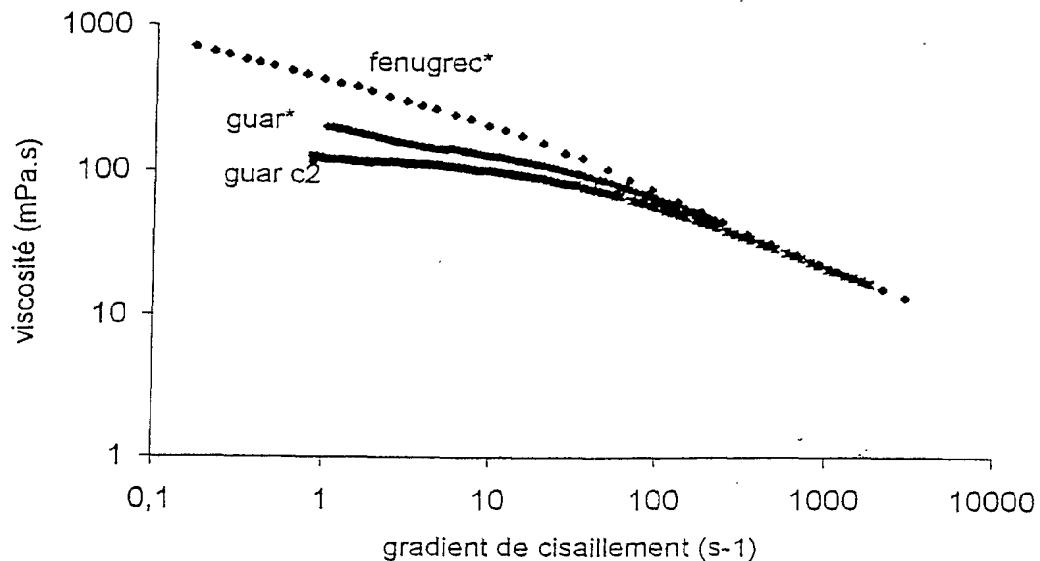
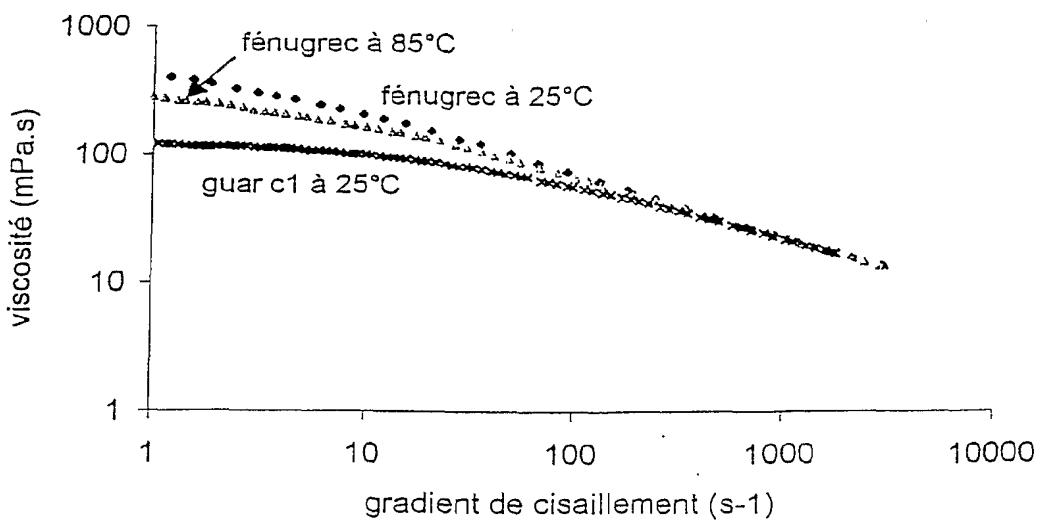


figure 7: Galactomannanes de fénugrec (solubilisation 1h à 25 et 85 °C) et de guar (solubilisation 1h à 25°C)



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/FR 01/01040

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 A61K35/78 A61K7/48 C08B37/00 A23L1/0526

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 7 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, FSTA, BIOSIS, MEDLINE, PASCAL, LIFESCIENCES, CHEM ABS Data, CAB Data, EMBASE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP 0 742 007 A (SEROBIOLOGIQUES LAB SA) 13 November 1996 (1996-11-13) page 2, line 43 -page 4, line 14 -----	1-16
X	WO 95 21199 A (WHALLEY KEVIN ;YISSUM RES DEV CO (IL); ASERIN ABRAHAM (IL); GARTI) 10 August 1995 (1995-08-10) cited in the application page 1, line 1 -page 7, line 9 -----	1-16
A	US 4 720 389 A (CLARE KENNETH ET AL) 19 January 1988 (1988-01-19) -----	

Further documents are listed in the continuation of box C.

Patent family members are listed in annex.

° Special categories of cited documents :

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *&* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

3 September 2001

Date of mailing of the international search report

10/09/2001

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Rempp, G

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No
PCT/FR 01/01040

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)		Publication date
EP 0742007	A	13-11-1996	FR	2733908 A	15-11-1996
WO 9521199	A	10-08-1995	IL	108583 A	10-06-1997
			AU	1583795 A	21-08-1995
			DE	69510920 D	26-08-1999
			DE	69510920 T	23-12-1999
			EP	0743959 A	27-11-1996
			US	5847109 A	08-12-1998
US 4720389	A	19-01-1988	GB	2189808 A, B	04-11-1987

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale No
PCT/FR 01/01040

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE
CIB 7 A61K35/78 A61K7/48 C08B37/00 A23L1/0526

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)
CIB 7 A61K

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, FSTA, BIOSIS, MEDLINE, PASCAL, LIFESCIENCES, CHEM ABS Data, CAB Data, EMBASE

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	EP 0 742 007 A (SEROBIOLOGIQUES LAB SA) 13 novembre 1996 (1996-11-13) page 2, ligne 43 -page 4, ligne 14 ---	1-16
X	WO 95 21199 A (WHALLEY KEVIN ;YISSUM RES DEV CO (IL); ASERIN ABRAHAM (IL); GARTI) 10 août 1995 (1995-08-10) cité dans la demande page 1, ligne 1 -page 7, ligne 9 ---	1-16
A	US 4 720 389 A (CLARE KENNETH ET AL) 19 janvier 1988 (1988-01-19) ---	

Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

° Catégories spéciales de documents cités:

- "A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- "E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- "L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- "O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- "P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

- "T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention
- "X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément
- "Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier
- "&" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

3 septembre 2001

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

10/09/2001

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale
Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Rempp, G

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande Internationale No

PCT/FR 01/01040

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)		Date de publication
EP 0742007	A	13-11-1996	FR	2733908 A	15-11-1996
WO 9521199	A	10-08-1995	IL	108583 A	10-06-1997
			AU	1583795 A	21-08-1995
			DE	69510920 D	26-08-1999
			DE	69510920 T	23-12-1999
			EP	0743959 A	27-11-1996
			US	5847109 A	08-12-1998
US 4720389	A	19-01-1988	GB	2189808 A, B	04-11-1987